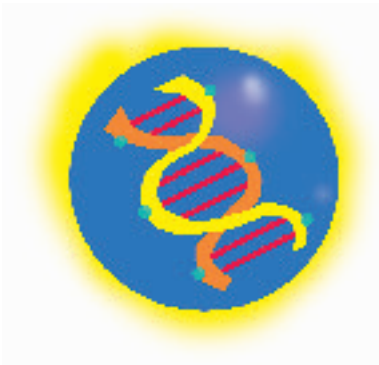


El control de la expresión genética en su contexto natural



Entender la relación entre la estructura de la cromatina y la regulación genética representa hoy un reto científico de gran interés, y su comprensión tendrá consecuencias directas en problemas relacionados con el sector salud.

Félix Recillas Targa

INTRODUCCIÓN

La elucidación de la estructura de la molécula del ácido desoxirribonucleico (o ADN) representó seguramente el momento clave en el origen de la biología moderna. Parcialmente establecida mediante el enfoque químico de Linus Pauling y complementadas por las observaciones de difracción de rayos X realizadas inicialmente por Rosalind Franklin y Maurice Wilkins, del King's College, en Londres, el modelo final fue propuesto por Francis Crick y James Watson en 1953. Este modelo detalla la estructura del ADN con dos hebras enrolladas de manera helicoidal, unidas paralelamente por puentes moleculares.

Varios sucesos sensacionales siguieron tras ese descubrimiento, como, por ejemplo, el desciframiento del código genético, que permite que toda célula pueda traducir la información genética contenida en su ADN en instrucciones para la síntesis de los miles de proteí-

nas que dictan la estructura de una célula, de un tejido y finalmente de un organismo. Otro de los avances más significativos se originó a inicios de los años setenta del siglo pasado, con el descubrimiento y desarrollo de la ingeniería genética, que permite la manipulación del ADN. Éstos y muchos otros descubrimientos contribuyeron a la formulación de preguntas cada vez más complejas, planteadas con la finalidad de entender cómo funciona una célula en el nivel molecular.

Un área fundamental de estudio es la que busca definir cómo se regula la actividad de los genes, o expresión genética, entendida ésta como el proceso en el cual un gene es activado en el tejido y en el momento del desarrollo adecuados, para lograr la formación de un organismo. En años recientes los investigadores se han dado cuenta de que esta regulación se lleva a cabo en un contexto tridimensional proporcionado por la topología del núcleo celular y la estructuración del ADN junto con proteínas dentro del núcleo para formar la cromatina.

La regulación genética ha sido originalmente estudiada desde diversos ángulos. Dos de ellos son los siguientes: por un lado, la biología molecular, que trata de entender los mecanismos que llevan a la expresión de un gene, y por el otro, el enfoque bioquímico, que intenta hacerlo mediante la purificación y el aislamiento de los componentes proteicos que intervienen en la regulación y en la expresión de los genes. Durante varias décadas, la regulación genética y la estructura de la cromatina fueron consideradas como si pertenecieran a dos campos independientes de investigación. Hoy no es posible entender cómo es regulado un gene sin tomar en cuenta el contexto de la cromatina en la cual está contenido.

LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA

Los genes de los organismos eucariontes (cuyas células tienen un núcleo separado del resto de la célula por una membrana), además de tener una organización compleja, poseen un sistema de regulación muy complicado. Varios tipos de elementos de regulación dictan tanto la actividad basal de un gene, es decir sus niveles mínimos de actividad, como los elementos de regulación que el tejido deseado y durante etapas precisas de desarrollo (Wolffe, 1995; Recillas Targa, 2001).

Al respecto, una visión global ha sido posible gracias al estudio de la maquinaria basal de transcripción en distintos organismos, como por ejemplo la levadura *Sacharomyces cerevisiae* y la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Mediante experimentos de genética clásica, estos dos organismos han contribuido a entender mejor la regulación genética, y han permitido esclarecer las funciones de gran número de componentes del sistema de control a través del estudio de mutaciones que originan la pérdida de dichas funciones. Por

otra parte, hay que tomar en cuenta la existencia de líneas celulares, esto es, células de diferentes organismos y tejidos que pueden ser cultivadas indefinidamente en condiciones de laboratorio, y que facilitan la realización de pruebas funcionales que complementan la información derivada de los experimentos de genética clásica. Finalmente, la transferencia de

información genética a organismos, por ejemplo a ratones, para generar animales transgénicos, ha permitido detallar aún más los componentes responsables del control en la expresión de un gene dentro del contexto de un ser vivo. De estos estudios se desprende que a pesar de haber una gran conservación entre los componentes de la maquinaria basal de inicio de la transcripción de diversos organismos, los mecanismos de control de la regulación son muy variados. Estos estudios han llevado a concluir que el control de la estructuración del genoma

en cromatina forma parte integral de estos mecanismos, y probablemente represente uno de los primeros niveles de regulación.

LA CROMATINA Y LA EXPRESIÓN GENÉTICA

Los científicos han tratado siempre de simplificar al máximo la naturaleza para poder estudiarla y entenderla. Por ello, la expresión de un gene se imagina frecuentemente como una acción lineal que ejemplifica

**Dentro del núcleo,
el ADN tiene contactos
moleculares con una serie
de proteínas, conocidas
como *histonas***



una región de control, en estado activo o inactivo. Esta visión simplificada no contempla la estructura de la cromatina como un factor más en la regulación (Wolfe, 1995; Felsenfeld, 1996).

Las células de organismos eucariontes poseen un núcleo donde está contenida la información genética. Dentro del núcleo celular se almacenan de dos a cuatro metros de ADN. Para que el genoma quepa en el interior del núcleo, cuyo diámetro es únicamente de 10 micrómetros (milésimas de milímetro), se requiere un complejo sistema de compactación del ADN (Figura 1).

Dentro del núcleo, el ADN tiene contactos moleculares con una serie de proteínas, conocidas como *histonas*, que forman estructuras llamadas *nucleosomas*, alrededor de las cuales se encuentra enrollado el ADN, formando la estructura mínima de compactación que

se denomina cromatina. En su nivel más elevado de compactación, los nucleosomas y el ADN se agrupan formando los cromosomas (Figura 1). De esta manera, el ADN, al estructurarse en cromatina, obtiene el alto grado de compactación que requiere para caber en el interior del núcleo celular.

Este complejo y altamente eficiente sistema de compactación representa un obstáculo serio para la expresión genética, pues las proteínas que la controlan requieren tener acceso para unirse a ciertos sitios específicos en el ADN (sus llamadas *secuencias blanco*). Cuando los genes eucariontes se activan, es decir, cuando la información genética de cada gene es expresada mediante la síntesis de un ácido ribonucleico mensajero (ARNm), la estructura de la cromatina de esos genes y sus regiones aledañas se modifican, descompactándose y permitiendo el acceso a las proteínas que los controlan (Figura 2). A continuación presentaré evidencias de cómo la modificación o remodelado de la estructura de la cromatina tiene efectos directos sobre la regulación de la expresión genética.

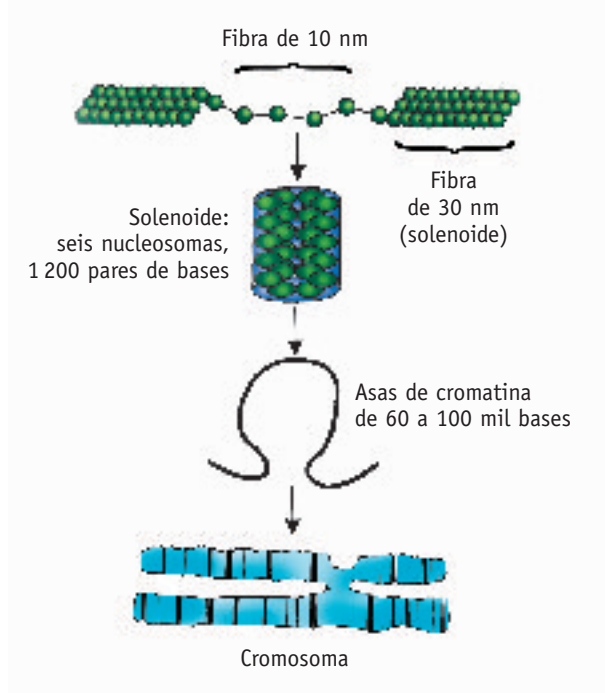


Figura 1. La estructura de la cromatina y sus distintos niveles de compactación. Los círculos representan los nucleosomas, compuestos por ocho histonas. Seis nucleosomas, con la ayuda de la histona H1, forman el solenoide o fibra de 30 nanómetros. Esta fibra a su vez forma estructuras con un nivel superior de compactación: las asas, que abarcan grandes áreas del genoma (de 60 a 100 mil bases), y mediante procesos aún desconocidos se estructuran aún más para formar los cromosomas, con un patrón de bandas específico.

MODIFICACIONES DE LA ESTRUCTURA DE LA CROMATINA

Como se mencionó, en su estado natural el ADN se encuentra estructurado en cromatina. Desde hace muchos años, los estudios relacionados con el control genético se han realizado en sistemas experimentales que no contemplan la estructura de esta cromatina. Hoy en día, pruebas claras demuestran que en el remodelado de la estructura de la cromatina contribuye, de manera dinámica, la apertura de zonas en el genoma conocidas como *dominios*, lo cual facilita la expresión genética.

¿Cómo se lleva a cabo este proceso? Ya que no todos los genes están activos al mismo tiempo, existe un complejo sistema de proteínas que se unen al ADN o a otras proteínas, y que dan la señal para que la maquinaria responsable de la expresión genética se concentre en el gene o en los genes que serán transcritos. Por lo tanto, sin remodelado de la cromatina difícilmente se pueden realizar las distintas funciones necesarias para la expresión de un gene.

Como ya se apuntó, la estructura de la cromatina impide el libre acceso de las proteínas reguladoras a sus

secuencias blanco en el ADN (Figura 1); por eso dicha estructura se debe modificar o remodelar de manera regulada. El principal blanco para esta regulación son los nucleosomas. Se han demostrado al menos dos formas generales de remodelado de la cromatina. La primera es la modificación química de los componentes de los nucleosomas, es decir, las histonas. La segunda es el desplazamiento y reorganización de los nucleosomas sin modificación aparente de las histonas. Otra forma independiente de regulación a través de la estructura de la cromatina es la modificación química del ADN conocida como *metilación*. Estos tres tipos o niveles de regulación afectan directamente, de manera positiva o negativa, la expresión genética.

Acetilación y desacetilación de histonas

Las alteraciones en la estructura de la cromatina, a través de la modificación de las histonas, tienen consecuencias directas en la regulación de la expresión de los genes (Strahl y Allis, 2000). Estas proteínas se consideran elementos centrales en la expresión de los genes, ya que las histonas pueden ser modificadas de manera reversible mediante la acetilación específica (unión de grupos acetilo) de algunos de los aminoácidos que las forman, como la lisina. Esta modificación neutraliza una carga positiva, relajando la estructura de la cromatina y en consecuencia favoreciendo la expresión de los genes. En el caso contrario, la desacetilación de las histonas condensa la cromatina e impide la expresión genética. Hoy se conocen numerosas proteínas reguladoras que tienen como función unirse a las enzimas responsables de estos cambios químicos en las histonas hacia regiones de regulación. De esta forma, uno de los primeros hechos en la regulación de la expresión genética es la modificación de las histonas y de la cromatina.

Complejos de remodelado

Recientemente se han descubierto complejos compuestos por varias proteínas que remodelan la estructura de la cromatina y que comprenden de dos hasta once subunidades (Kingston y Narlikar, 1999). Originalmente,

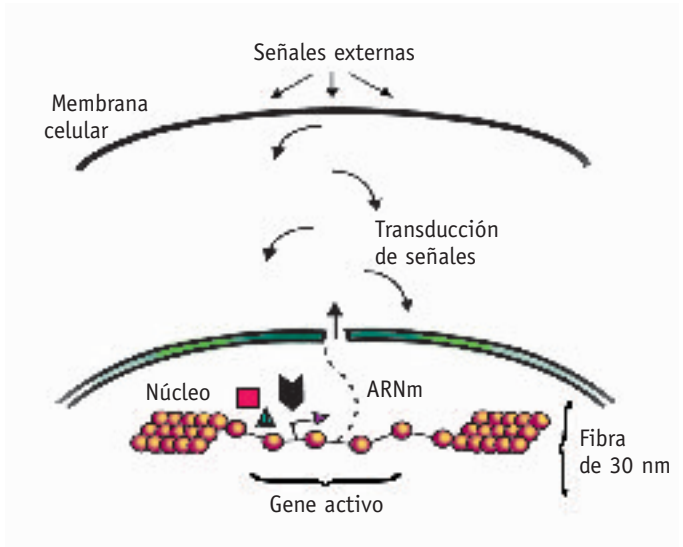
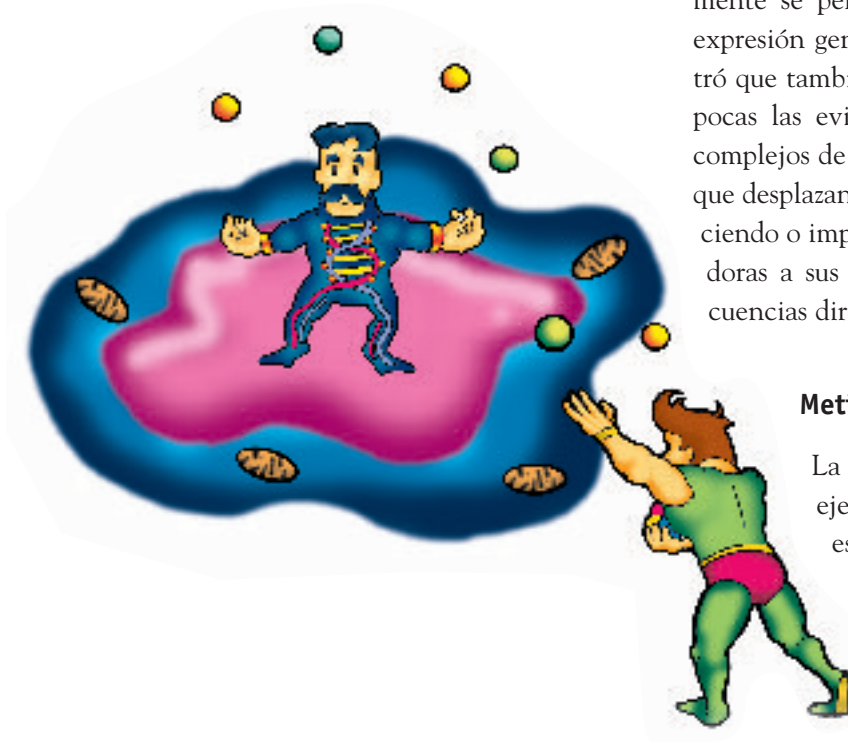


Figura 2. Diversas señales que llevan a la activación de un gene a través de la remodelación de la cromatina. Las señales externas a la célula, como los cambios de temperatura, presión osmótica o nutrientes, entre otros, provocan una cascada de señales, conocidas como *señales de transducción*, que llegan al núcleo de la célula. Estas señales permiten, de manera regulada, la remodelación de la cromatina (gene activo), en particular a partir de la fibra de 30 nanómetros. Una vez realizada tal remodelación de la cromatina, los elementos de control (representados por el triángulo, la flecha y el cuadrado) pueden acceder a sus secuencias blanco en el ADN y llevar a cabo sus funciones de regulación.

**La metilación
es un proceso eficiente
para reprimir rápidamente
la expresión genética**

por su actividad, se les identificó en levaduras, pues esa actividad favorece la expresión de los genes, y posteriormente se demostró que tal actividad se origina en el remodelado de los nucleosomas. El remodelado de la cromatina debe ser entendido como el desplazamiento y la reorganización de los nucleosomas, lo cual deja zonas libres de nucleosomas en el ADN, y permite que en éste haya acceso de proteínas reguladoras. Inicialmente se pensó que esta remodelación favorecía la expresión genética, pero hace poco tiempo se demostró que también puede inhibirla. En la actualidad son pocas las evidencias directas de la actividad de los complejos de remodelado *in vivo*, pero hay indicios de que desplazan y reorganizan a los nucleosomas, favoreciendo o impidiendo el acceso de las proteínas reguladoras a sus secuencias blanco, lo cual tiene consecuencias directas en la expresión genética.



Se ha demostrado que la estructura de la cromatina y la respuesta hormonal van de la mano

Metilación del ADN

La modificación química del ADN, por ejemplo la metilación, tiene efectos en la estructura de la cromatina y en la expresión genética (Bird y Wolffe, 1999). La metilación ha sido propuesta como un medio de defensa del genoma en contra del ADN “parásito”, representado por los *transposones* (secuencias

que no codifican ninguna proteína y poseen la capacidad de “saltar” de un sitio a otro dentro del genoma, y que fomentan una inestabilidad tan alta que puede llegar a tener consecuencias graves para la vida de una célula). Este ADN “parásito” está usualmente compuesto por secuencias que, dada su naturaleza, tienden a producir inestabilidades genómicas que en los casos más graves provocan la pérdida de segmentos enteros de cromosomas. Al ser metiladas estas secuencias, la célula evita acciones frecuentes de recombinación, y de esta manera protege al genoma de graves inestabilidades y rearrreglos cromosómicos. Por otra parte, la metilación es un proceso eficiente para reprimir rápidamente la expresión genética. El ejemplo clásico es la transición que ocurre entre la etapa fetal y el nacimiento de un organismo eucarionte superior. Justo al nacimiento, gran número de genes, neces-

rios para las etapas embrionarias y fetales, son rápidamente metilados y consecuentemente reprimidos, dado que su expresión ya no es necesaria después del nacimiento.

RECEPTORES NUCLEARES Y CROMATINA

La estructura de la cromatina también se ve modificada por una respuesta hormonal. Los receptores del núcleo constituyen uno de los ejemplos más significativos del control de la expresión genética. Funcionan mediante su unión con complejos de proteínas que tienen la capacidad de estabilizar o desestabilizar de manera reversible la estructura de la cromatina. Durante años se ha estudiado el efecto de las hormonas en el comportamiento celular, en particular en la comunicación de señales, en la que los receptores internos y externos de la célula desempeñan un papel central (Figura 2). En la mayoría de los casos, la cascada de sucesos de transducción lleva a la activación de algún gene, cuya expresión permitirá a la célula ofrecer una respuesta fisiológica a la señal externa (Figura 2). En la actualidad se ha demostrado que la estructura de la cromatina y la respuesta hormonal van de la mano. Distintos receptores hormonales forman complejos con proteínas que tienen la capacidad de modificar la estructura de la cromatina, de modo que cuando la hormona se une a estas proteínas, el complejo se une a la cromatina y la modifica, exponiendo al ADN libre de histonas y dejándolo listo para ser “leído”. Una vez que, en presencia de hormona, la cromatina queda accesible, el receptor asociado a una serie de proteínas sufre un cambio de conformación que lo convierte en potente activador de la expresión genética. De esta forma, a través de distintas respuestas hormonales, la expresión de genes importantes en la fisiología celular puede ser regulada en primera instancia a través de cambios de conformación en la estructura de la cromatina.

CITOLOGÍA Y CROMATINA

Comúnmente, las zonas del genoma cuya estructura de la cromatina se halla descompactada se conocen como *eucromatina*, y las zonas compactadas como *heterocromatina*. Pero en cualquiera de estos dos estados, el

ADN no es el único participante en los procesos de regulación de la expresión genética. En años recientes, y con apoyo de los grandes avances de la microscopía de fluorescencia, ha sido posible realizar estudios de la estructura completa de la célula y del núcleo. Estas evidencias citológicas han fortalecido la idea de que hay zonas dentro del núcleo, por lo general cercanas a la periferia y a los poros del núcleo, que tienen mayor expresión genética y que coinciden con las zonas de eucromatina. En estas zonas, llamadas *territorios*, se encuentra mayor densidad de genes activos y de proteínas reguladoras de la expresión genética.

Los genes activos producen una copia de su información genética en forma de la molécula llamada *ácido ribonucleico mensajero* (Figura 2), el cual debe ser transportado fuera del núcleo de la célula para que a partir de sus instrucciones se fabrique una proteína. La existencia de territorios dentro del núcleo facilita la producción regulada de ácidos ribonucleicos mensajeros y su transporte eficiente fuera del núcleo.

Otra aportación de la estructura de la cromatina a la regulación genética tiene que ver con la participación de factores nucleares en la inhibición de la expresión de los genes. Estos factores, al interactuar con componentes nucleares (que pueden ser otras proteínas), provocan el traslado de un gene a territorios donde se inhibe su expresión, como por ejemplo los llamados *centrómeros* y *telómeros*, zonas del genoma altamente compactadas y con baja densidad de genes. Éste es un sistema de regulación del que aún se sabe

La existencia de territorios dentro del núcleo facilita la producción regulada de ácidos ribonucleicos mensajeros

poco, y que fue descubierto gracias a los avances de las técnicas de localización celular.

Por otra parte, la localización mediante el uso de anticuerpos marcados ha permitido entender cómo se distribuyen proteínas reguladoras y estructurales de la cromatina dentro del espacio tridimensional del núcleo. Además, estas técnicas han contribuido a determinar la distribución de proteínas en los cromosomas de distintos organismos, en particular en la mosca de la fruta. Estas observaciones han apoyado la hipótesis de que el genoma de organismos eucariontes se organiza en dominios genéticamente activos.

Un número considerable de evidencias experimentales indican que el control específico y la conformación de la arquitectura de la cromatina en el interior del núcleo celular constituyen requisitos indispensables para la correcta regulación de la expresión genética. Investigaciones recientes demuestran que, además de la compartimentalización del núcleo en territorios, los genes cambian de posición en el interior del núcleo. Cuando la expresión de un gene debe ser silenciada, su localización intranuclear es cercana a zonas de heterocromatina, en particular a los centrómeros, donde se localiza baja densidad de genes y la cromatina se encuentra en estado altamente compactado e inactivo. De manera regulada, al ser activado, dicho gene se mueve a una zona del núcleo alejada del centrómero, y permite su expresión (Francastel *et al.*, 2000).

Numerosas deficiencias genéticas se originan por mutaciones o por la pérdida de reguladores de la expresión genética

En resumen, existe estrecha relación entre la conformación del núcleo y la estructura de la cromatina. Dicha relación depende probablemente de interacciones entre proteínas o entre proteínas y ADN. Es probable que la organización del núcleo en territorios activos y la subsecuente transmisión de la información genética dependan de cambios en la propia estructura de la cromatina y en la dinámica del núcleo.

CROMATINA Y ENFERMEDADES

Gran número de deficiencias genéticas se originan por mutaciones o por la pérdida de elementos clave de regulación de la expresión de los genes. Para compensar dichas deficiencias, se diseñaron métodos de transferencia de información genética. Usualmente, la acción de transferencia es poco eficiente, lo que representa un obstáculo si se desea usarla como terapia génica. Además, una vez lograda la transferencia, la expresión de la información genética se ve afectada por una gran variabilidad en sus niveles de expresión, puesto que su integración en el genoma ocurre al azar, y porque su expresión se pierde progresivamente. Estos dos sucesos, posteriores a la transferencia e integración de la información genética, dificultan las actuales estrategias de terapia génica. Recientemente se ha demostrado que estos fenómenos se relacionan directamente con la estructura de la cromatina. Recordemos que dicha estructura es el principal obstáculo para la expresión genética. El estudio y la comprensión del efecto de la cromatina sobre la regulación de la expresión genética nos llevará a entender cómo se originan ciertas enfermedades y nos permitirá diseñar nuevas estrategias terapéuticas.

Por otra parte, la estructura de la cromatina también desempeña un papel importante en la inestabilidad genómica. Ciertas enfermedades genéticas se originan a partir de rearrreglos de los cromosomas, y en ocasiones provocan la pérdida de fragmentos enteros de los mismos. Se sabe poco acerca de cómo se originan estos hechos, pero es muy probable que dichas inestabilidades se inicien a partir de la pérdida de los elementos de control responsables de establecer una estructura óptima de la cromatina. Una vez más, entender bien estos temas nos llevará a proponer explicaciones y soluciones a diversos tipos de enfermedades.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La regulación de un gene eucarionte no puede ser entendida sin tomar en cuenta el contexto cromosómico en el que se encuentra. La activación regulada de un gene a lo largo del desarrollo de un organismo es un proceso muy complejo, y requiere múltiples niveles de regulación; además, en éstos deben realizarse acciones coordinadas de interacción entre la maquinaria de expresión genética, los activadores específicos de cada tejido, los represores y la estructura de la cromatina. Lamentablemente, existen limitaciones técnicas que no permiten el estudio de estos fenómenos *in vivo*, de manera más cercana a lo que acontece realmente en el interior de la célula. Lo que queda claro es que una cascada de sucesos, ligados directamente a la estructura de la cromatina, es decir, a la estructura y a la estabilidad de los nucleosomas, es necesaria para la función de un gene. Hemos visto que la acetilación y desacetilación participan directamente en la modificación de las histonas, con consecuencias directas en la regulación de la expresión genética a través de cambios en la estructura de la cromatina. Recientemente, un número importante de complejos de remodelado de la cromatina han mostrado su importancia tanto en la activación como en la represión. Ligado a lo anterior, hoy se sabe que la metilación, propuesta originalmente como un mecanismo de defensa del genoma, constituye un medio heredable de represión transcripcional. La respuesta hormonal originada por una cascada de acciones de comunicación de señales del exterior hacia el interior de la célula también tiene como uno de sus blancos finales a la cromatina. Los fenómenos biológicos mencionados se llevan a cabo dentro del núcleo, en territorios bien definidos que de manera coordinada favorecen la expresión genética. Entender la relación entre la estructura de la cromatina y la regulación genética representa en la actualidad un reto científico de gran interés, y seguramente su comprensión tendrá consecuencias directas en problemas relacionados con el sector salud. En los años siguientes seguirá el auge en los descubrimientos asociados con los procesos dinámicos que involucran la regulación de la expresión genética, la organización genómica, la estructura de la cromatina y la arquitectura del núcleo celular.

Bibliografía

- Bird, A. P., y A. P. Wolffe (1999), "Methylation-induced repression-belts, braces and chromatin", *Cell*, 99:451-454.
- Collingwood, T. N., F. D. Urnov y A. P. Wolffe (1999), "Nuclear receptors: Coactivators, corepressors and chromatin remodeling in the control of transcription", *J. Mol. Endocrinol.*, 23:255-275.
- Felsenfeld, G. (1996), "Chromatin unfolds", *Cell*, 86:13-19.
- Francastel, C., M. C. Walters, M. Groudine y D. I. Martin (2000), "A functional enhancer suppresses silencing of a transgene and prevents its localization close to centromeric heterochromatin", *Cell*, 99:259-269.
- Kingston, R. E., y G. J. Narlikar (1999), "ATP-dependent remodeling and acetylation as regulators of chromatin fluidity", *Genes Dev.*, 13:2339-2352.
- Recillas Targa, F. (2001), "La estructura de la cromatina y su relación con la regulación de la expresión genética", *Boletín de Educación Bioquímica*, 20:6-18.
- Strahl, B. D., y C. D. Allis (2000), "The language of covalent histone modifications", *Nature*, 403:41-45.
- Wolffe, A. P. (1995), *Chromatin structure and function*, Nueva York, Academic Press, pp. 299.

Félix Recillas Targa es investigador en el Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Estudió el doctorado en el Institut Jacques Monod en París, Francia. Su principal interés científico es el estudio de la relación entre la estructura de la cromatina y la regulación de la expresión genética a lo largo del desarrollo. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores y de la Academia Mexicana de Ciencias, y ha publicado 25 artículos en revistas internacionales.